

COLD-CURING ACRYLIC FORMULATIONS COMPRISING LOW TOXICITY ACTIVATORS DERIVED FROM DIAMINODIPHENYLCARBINOL

Publication number: WO03066117

Publication date: 2003-08-14

Inventor: VAZQUEZ LASA BLANCA (ES); SAN ROMAN DEL
BARRIO JULIO (ES)

Applicant: CONSEJO SUPERIOR INVESTIGACION (ES);
VAZQUEZ LASA BLANCA (ES); SAN ROMAN DEL
BARRIO JULIO (ES)

Classification:

- international: **A61K6/083; A61L24/06; A61K6/02; A61L24/00; (IPC1-
7): A61L24/06; A61K6/083**

- European: **A61K6/083B; A61L24/06**

Application number: WO2003ES00055 20030131

Priority number(s): ES20020000312 20020208

Also published as:



ES2192141 (A1)

AU2003208725 (A1)

Cited documents:



WO0141713

US5698611

Report a data error here

Abstract of WO03066117

The invention relates to the development of cold-curing acrylic formulations for use in bone cement precursor compositions having low toxicity and good biocompatibility. In recent decades, polymeric bone cements have been used as media for the controlled release of medicaments and, in orthopaedic surgery and traumatology, for fixing joint prostheses, the bone cement serving to immobilise the prosthesis. However, certain adverse reactions which are caused by the cement have been observed in the medium and long term, said reactions being connected primarily to the chemical composition of the cement and/or the physical properties thereof.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intellectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
14 de Agosto de 2003 (14.08.2003)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 03/066117 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: A61L 24/06,
A61K 6/083

(21) Número de la solicitud internacional: PCT/ES03/00055

(22) Fecha de presentación internacional:
31 de Enero de 2003 (31.01.2003)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200200312 8 de Febrero de 2002 (08.02.2002) ES

(71) Solicitante *(para todos los Estados designados salvo US)*:
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS [ES/ES]; C/ Serrano, 117, E-28006
Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes *(para US solamente)*:
VÁZQUEZ LASA, Blanca [ES/ES]; Insto. Ciencia
y Tecnología de Polímeros, Consejo Superior de Investiga-
ciones Científicas, C/ Juan de la Cierva, 3, E-28006 Madrid
(ES). SAN ROMÁN DEL BARRIO, Julio [ES/ES]; Insto.
Ciencia y Tecnología de Polímeros, Consejo Superior
de Investigaciones Científicas, C/ Juan de la Cierva, 3,
E-28006 Madrid (ES).

(74) Mandatario: REPRESA SÁNCHEZ, Domingo; Oficina
De Transferencia De Tecnología, Consejo Superior De
Investigaciones Científicas, C/ Serrano, 113, E-28006
Madrid (ES).

(81) Estados designados *(nacional)*: AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados *(regional)*: patente ARIPO (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente
euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI,
SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección
"Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al
principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: COLD-CURING ACRYLIC FORMULATIONS COMPRISING LOW TOXICITY ACTIVATORS DERIVED FROM
DIAMINODIPHENYLCARBINOL

(54) Título: FORMULACIONES ACRÍLICAS DE CURADO EN FRÍO CON ACTIVADORES DERIVADOS DE DIAMINODI-
FENILCARBINOL DE BAJA TOXICIDAD

(57) Abstract: The invention relates to the development of cold-curing acrylic formulations for use in bone cement precursor com-
positions having low toxicity and good biocompatibility. In recent decades, polymeric bone cements have been used as media for the
controlled release of medicaments and, in orthopaedic surgery and traumatology, for fixing joint prostheses, the bone cement serving
to immobilise the prosthesis. However, certain adverse reactions which are caused by the cement have been observed in the medium
and long term, said reactions being connected primarily to the chemical composition of the cement and/or the physical properties
thereof.

(57) Resumen: La presente invención está relacionada con el desarrollo de formulaciones acrílicas de curado en frío para su uso
como composiciones precursoras de cementos óseos de baja toxicidad y buena biocompatibilidad. Los cementos óseos poliméricos
se vienen empleando durante las últimas décadas como soportes de liberación controlada de medicamentos y en cirugía ortopédica y
traumatología para la fijación de prótesis de articulaciones siendo la función del cemento óseo la inmovilización de la prótesis. Sin
embargo, se han descrito ciertas reacciones adversas producidas por el cemento a medio y largo plazo que se relacionan principal-
mente con la composición química del cemento y/o sus propiedades físicas.

WO 03/066117 A1

FORMULACIONES ACRÍLICAS DE CURADO EN FRÍO CON ACTIVADORES DERIVADOS DE DIAMINODIFENILCARBINOL DE BAJA TOXICIDAD

Sector de la técnica

- 5 Esta invención se enmarca dentro de los cementos óseos poliméricos utilizados como sistemas de liberación controlada de medicamentos en cirugía ortopédica para la fijación de prótesis y en aplicaciones dentales como componente polimerizable de "composites".

Estado de la técnica

- 10 Los cementos óseos utilizados en cirugía ortopédica están basados predominantemente en poli(metacrilato de metilo), PMMA. Se obtienen por curado en frío de las composiciones precursoras que generalmente comprenden dos fases: una fase sólida y una fase líquida. La fase sólida normalmente comprende partículas en forma de perlas de PMMA prepolimerizadas o sus copolímeros, junto con uno o más iniciadores radicales y,
- 15 opcionalmente, uno o más agentes radiopacos. Un iniciador de tipo radical es un compuesto, por ejemplo un peróxido, que es capaz de producir radicales libres. Un agente radiopaco es un compuesto que como su nombre indica es sustancialmente opaco a la radiación, en particular a la radiación que se utiliza en el diagnóstico médico, tal como los rayos X. La fase líquida comprende un monómero polimerizable, normalmente metacrilato
- 20 de metilo, MMA, junto con uno o más activadores. El activador es un compuesto, tal como una amina terciaria aromática, que produce la descomposición del iniciador a temperatura ambiente para dar lugar a la formación de radicales libres. La fase líquida también puede comprender uno o más inhibidores y/o estabilizadores que se añaden con el fin de evitar la polimerización del monómero durante el almacenamiento. Cuando las dos fases de la
- 25 composición precursora de cemento óseo se mezclan se produce la reacción de polimerización del monómero obteniéndose un cemento óseo que consiste en partículas del polvo sólido embebidas en una matriz intersticial de polímero formado.

- Una desventaja de los cementos óseos basados en PMMA es el carácter altamente
- 30 exotérmico de la reacción de polimerización y se pueden generar temperaturas

comprendidas entre 70 y 100°C en el centro de la masa del cemento. Este elevado aumento de la temperatura puede originar una necrosis en el tejido circundante y el consiguiente daño óseo, siendo numerosas las referencias encontradas en la bibliografía a este respecto.

- 5 Otra desventaja es la hipotensión producida principalmente por el monómero, metacrilato de metilo, que puede inducir efectos sistémicos si entra en la corriente sanguínea. Además, el monómero residual no reaccionado puede migrar a los tejidos circundantes produciendo una necrosis química.
- 10 El cemento óseo de PMMA es un material frágil y presenta una baja tenacidad a la fractura y vida en fatiga pobre. Con el fin de mejorar sus propiedades mecánicas se han desarrollado nuevas formulaciones mediante la adición de un agente de refuerzo, la producción de un cemento de bajo módulo elástico o bien la obtención de cementos bioactivos. Así mismo se han desarrollado nuevas técnicas de mezclado de los componentes precursores debido a la
- 15 influencia que ejercen principalmente en la porosidad del material resultante lo que posteriormente repercutirá en sus propiedades mecánicas. Recientemente, G. Lewis ha publicado una importante revisión sobre este tema en su artículo titulado "Properties of acrylic bone cement: State of the art" (J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomaterials) 38, 155-182, 1997).
- 20 El aflojamiento aséptico, esto es el aflojamiento del implante y la consiguiente formación de la membrana fibrosa en la interfaz hueso/cemento con el tiempo, es otro de los mayores problemas asociados con los reemplazos de articulaciones. Sus causas, aunque inciertas, se relacionan con la fractura del cemento y con la necrosis ósea. Como se ha mencionado
- 25 anteriormente, una respuesta biológica adversa se atribuye a los residuos de bajo peso molecular procedentes de la composición precursora del cemento, especialmente aquellos componentes que presentan suficiente solubilidad en los fluidos fisiológicos como para ser lixiviados de la matriz polimérica a los tejidos circundantes.
- Otra de las preocupaciones actuales se centran en el uso del activador N,N-dimetil-4-
- 30 toluidina (DMT) o N,N-dimetilanilina ya que ambos pertenecen a una clase de compuestos

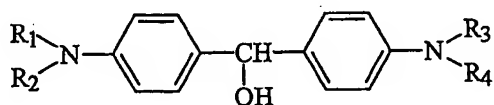
capaces de reaccionar con el DNA. El análisis de la genotoxicidad ha revelado que la DMT en particular es capaz de inducir alteraciones cromosómicas. Además se ha confirmado la presencia de DMT en cementos que han sido implantados en periodos de 2.5 a 10 años. Como alternativas a la DMT se han utilizado otras aminas de mayor peso molecular o incluso aminas polimerizables. Una revisión sobre este tema ha sido publicada por B. Vázquez y col. En su artículo titulado "Role of amine activators on the curing parameters, properties and toxicity of acrylic bone cements" (Polymer International 46, 241-250, 1998).

Breve descripción de la invención

La presente invención está relacionada con el desarrollo de formulaciones acrílicas curado en frío para su uso como composiciones precursoras de cementos óseos. Los cementos óseos poliméricos se vienen empleando durante las últimas décadas en cirugía ortopédica y traumatología para la fijación de prótesis de articulaciones siendo la función del cemento óseo la inmovilización de la prótesis. Sin embargo, se han descrito ciertas reacciones adversas producidas por el cemento a medio y largo plazo que se relacionan principalmente con la composición química del cemento y/o sus propiedades físicas.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona una composición para su uso como composición precursora de cemento óseo que comprende uno o más compuestos de estructura general como la que se presenta en la Fórmula (I) debajo:



Fórmula (I)

donde:

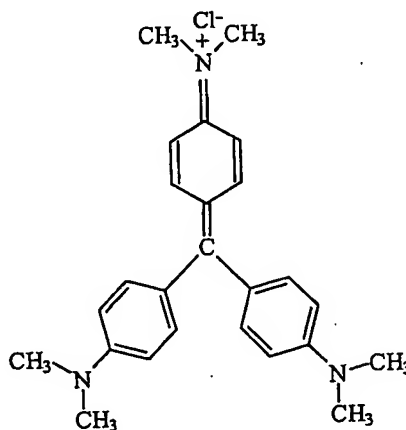
R₁ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.

R₂ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.

R₃ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.

5 R₄ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.

La selección de la estructura presentada en la Fórmula (I) se realizó en base a la estructura del compuesto violeta de genciana (Fórmula (II)), compuesto muy utilizado a nivel hospitalario por sus propiedades antisépticas.



10

Fórmula (II)

15 Los compuestos de fórmula general Fórmula (I) poseen mayor hidrofobicidad que la DMT y por tanto, es de esperar una reducción en la necrosis del tejido circundante producida por la migración de estos compuestos del cemento a los tejidos adyacentes y a la circulación sistémica.

20 Los compuestos de fórmula general Fórmula (I) ofrecen la ventaja de poseer valores de toxicidad expresados como dosis letal 50 (LD₅₀) muy inferiores al valor que presenta la DMT.

Los compuestos de fórmula general Fórmula (I) ofrecen la ventaja de ser menos citotóxicos que la DMT sobre leucocitos polimorfonucleares.

Los compuestos de fórmula general Fórmula (I) presentan una mayor actividad que la DMT frente a diferentes microorganismos.

La presente invención también proporciona un cemento que ha sido obtenido por curado de cualquiera de las composiciones descritas arriba y que son adecuadas para su uso como composiciones precursoras de cemento óseo y/o como sistemas autocurables de dosificación de medicamentos. Los cementos así obtenidos presentan algunas ventajas sobre los cementos que se han descrito con anterioridad.

Las composiciones precursoras de cemento óseo que comprenden en su fase líquida un compuesto de fórmula general Fórmula (I) como activador curan a temperaturas inferiores a las de las composiciones comerciales. Ésto podría reducir potencialmente el perjuicio ocasionado en los tejidos adyacentes durante la formación del cemento óseo "in situ".

Los cementos de la presente invención que comprenden en la fase líquida un activador de fórmula general Fórmula (I) proporcionan efectos beneficiosos en el proceso de regeneración del hueso cuando se han implantado en su estado pastoso en el fémur de conejos, y han curado "in situ". El tejido adyacente al cemento implantado mostró una mayor y más rápida neoformación ósea en comparación a la observada en presencia de las formulaciones comerciales

25 EJEMPLO 1

Análisis comparativo de la toxicidad aguda del 4,4'-bis-dimetilaminobenzidrol (BZN) y de la N,N-dimetilamino-4-toluidina (DMT), activador usado comúnmente en las formulaciones comerciales de cemento óseo.

La toxicidad aguda se analizó con ratones machos de raza SPF-NMR1 de peso 25 ± 3 gr. (cada animal se pesó de forma individualizada para calcular la cantidad real administrada). Se eligieron 10 animales por cada dosis y compuesto. Se administraron en la vena caudal del ratón soluciones salinas de los correspondientes clorhidratos, debido a la escasa solubilidad de estas aminas en medio salino acuoso. Esta administración se efectuó por la mañana, entre las 8,00 y las 11,00 h. Posteriormente los animales se guardaron en habitaciones con aire acondicionado a una temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ y $55 \pm 5\%$ de humedad relativa. En estas condiciones, se siguió el comportamiento de los animales hasta el séptimo día tras la administración. La dosis letal promedio y la curva fue calculada mediante un análisis probit programado (Finney) desde el porcentaje de animales muertos, observados durante el período de siete días tras la administración.

La tabla I muestra los valores de la dosis letal 50, LD_{50} , del BZN y DMT, definiéndose la LD_{50} como la dosis mínima administrada a una población de ratones que provoca el 50% de la mortalidad de los mismos. Los resultados mostraron que el compuesto BZN presenta un valor de LD_{50} 3.58 veces mayor que la DMT en las mismas condiciones experimentales.

AMINA	LD_{50} (mg/kg)	Probit = $A \log(\text{Dosis}) + B$	
		A	B
DMT	75,80 (64,10-89,00)	9,79	15,97
BZN	271,39 (236,78-311,07)	10,39	20,29

Tabla I: Valores de la dosis letal 50 (con un límite de confianza del 95%) para los compuestos DMT y BZN junto con la regresión lineal del efecto de la dosis.

La FIG.1 muestra los diagramas obtenidos del análisis de los datos para tres porcentajes de mortalidad, 16%, 59% y 84%. El activador BZN presenta valores de la dosis letal más elevados que la DMT para cualquier índice de mortalidad. Los diagramas en la FIG.1 ponen de manifiesto el intervalo de la dosis necesario para aumentar la mortalidad del 16% al 84%. Mientras que para la DMT el intervalo es 60 mg/kg, BZN presenta un intervalo de 100 mg/kg en las mismas condiciones experimentales.

EJEMPLO 2

Análisis de la citotoxicidad sobre leucocitos polimorfonucleares del activador 4,4'-bis-dimetilaminobenzidrol (BZN) en comparación con N,N-dimetilamino-4-toluidina (DMT).

- 5 La citotoxicidad de estos compuestos fue estudiada "in vitro" sobre leucocitos polimorfonucleares extraídos de ratas macho Wistar.

Ratas machos Wistar de peso 250 ± 25 gr. fueron inyectadas en peritoneo con 10 ml. de solución de glucógeno al 6%. A las 16 horas de la inyección se sacrificó a los animales mediante luxación cervical. Se despejó la zona abdominal de piel y grasa sin dañar el interior, y se inyectaron 60 ml. de solución salina de Hank's modificada libre de Ca^{2+} y Mg^{2+} (mHBSS) en la cavidad peritoneal. Después de aplicar masaje manual a la cavidad peritoneal durante 90 seg., se retiraron 50 ml. de fluido peritoneal, que posteriormente se centrifugaron a 4°C a 800g en tubos de polipropileno durante 10 min. desechando el sobrenadante. Los eritrocitos contaminados se aislaron mediante la resuspensión de las células en 5 ml. de solución isotónica tamponada de clorhidrato de tris-amónico (0,38%, pH 7,2) durante 10 min. a 37°C . Se realizó una nueva centrifugación a 4°C a 400g durante 10 min., eliminando el sobrenadante. Las células recuperadas fueron resuspendidas de nuevo en 10 ml. de mHBSS. Se tomó una muestra para realizar un conteo del número de células usando un hemocitómetro. Los 10 ml. recuperados se centrifugaron de nuevo a 4°C a 800g durante 10 min., desechando el sobrenadante. Las células fueron resuspendidas a $2,5 \times 10^6$ céls./min. en una solución sin modificar HBSS que contiene 1,26 mM de Ca^{2+} y 0,9 mM de Mg^{2+} .

- 25 Se incubó a 37°C durante 10 min. 500 μl de células resuspendidas con 10 μl de DMT o BZN a tres concentraciones diferentes: 1, 0,5 y 0,1M. Seis muestras de 500 μl de solución de células se incubaron con 10 μl de solución Triton X-100 al 0,2% en 0,9% de ClNa. Otras seis muestras de 500 μl se incubaron con 10 μl de dimetilsulfóxido (DMSO) como control. Después de 10 min. de incubación, la solución se centrifugó a 4°C a 800g durante 10 min.
- 30 Se añadió 50 μl de sobrenadante a cada uno de los 96 pocillos de cada microplaca, que

contienen 200µl de solución de piruvato sódico 0,63 mM en 50 mM de fosfato (pH 7,5) y 1,6µl de una solución 40 mM de NADH. Posteriormente se realizó la medida espectrofotométrica a 37°C mediante un lector de microplaca Anthos HTIII. Se efectuaron lecturas a 340 nm durante 60 seg., tomándose medidas cada 20 seg.

5

La FIG.2 muestra la citotoxicidad de BZN y DMT obtenidas a diferentes concentraciones molares 0.1, 0.5 y 1.0 M. La citotoxicidad de la DMT aumenta con la concentración alcanzando un nivel de citotoxicidad del 52.5% (con respecto al control Triton X-100 usado como control positivo) cuando la concentración de DMT es 1.0 M. Sin embargo, la citotoxicidad de BZN no cambia notablemente con la concentración alcanzando niveles menores del 30% para cualquier concentración.

10

EJEMPLO 3

Actividad antimicrobiana del 4,4'-bis-dimetilaminobenzidrol (BZN) en comparación con aquella de la N,N-dimetilamino-4-toluidina (DMT).

15

Por razones prácticas de acuerdo con la aplicación de estos compuestos, se seleccionaron para probar la actividad de las diferentes aminas, dos bacilos Gram negativos diferentes (*E. coli* y *P. aeruginosa*) y un coco Gram positivo (*S. aureus*), presentes habitualmente en la flora del huésped, así como uno de los hongos patógenos más representativos (*C. albicans*). Se probó igualmente el efecto del dimetilsulfóxido (DMSO) (20% v/v). Los valores obtenidos fueron apreciablemente mayores que los de las aminas, y por lo tanto el efecto de DMSO no fue significativo en estos experimentos.

20

Escherichia coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Candida albicans* CECT 1001 se obtuvieron a partir de la Colección de Cultivos de Clase Española. Las bacterias se cultivaron rutinariamente en medio de cultivo de Soja-Trypticase (Difco) y el microorganismo *C. albicans* en YED (Extracto de Levadura [Difco] 2%, dextrosa 2% p/v en agua destilada), ambos medios se solidificaron con agar (0,2% p/v) cuando fue necesario. La actividad antimicrobiana se ensayó bien en

30

medio de cultivo Mueller Hinton (Difco) con bacterias, o en YED con *C. albicans*. La incubación se hizo a 37°C en todos los casos.

Los ensayos de dilución de micro-cultivos se realizaron en microplacas de 96 pocillos con 5 90µl. del medio y 10µl. del inóculo en cada pocillo. Los compuestos a ensayar, se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO)/agua destilada (20/80 v/v) en una concentración de 10% (p/v). Se prepararon diluciones por duplicado de cada compuesto en cada fila de pocillos, con un intervalo de concentración de 5% a 0,02% (p/v). Se incluyó el DMSO en una fila en un intervalo de concentraciones de 10% a 0,04% (v/v), y una fila se dejó 10 únicamente con medio para ser tomada como control positivo. El tamaño del inóculo se ajustó por espectrofotometría a una densidad óptica (DO) de $DO_{550}=0,02$, correspondiendo a una densidad de 2×10^5 céls./ml. Se añadieron 10µl. de inóculo a cada pocillo y las placas se incubaron durante 24 h. La DO_{550} se determinó después de cada incubación usando un scanner de microplacas (Organon Teknika, modelo 510), y la concentración mínima 15 inhibitoria (CMI) se definió como la dilución que provoca una reducción del 80% de la densidad óptica con respecto al control positivo.

Los valores de la CMI para los activadores DMT y BZN junto con los obtenidos para el vehículo DMSO, frente a diferentes microorganismos se muestran en la Tabla II. De 20 acuerdo con el protocolo establecido, el poder antimicrobiano de los compuestos aumenta a medida que el valor de la CMI decrece. Los valores de la CMI del DMSO son considerablemente más altos que aquellos de las aminos y por tanto el efecto del DMSO no es significativo en estos experimentos. Para hacer un estudio comparativo se tuvo en cuenta la relación BZN/DMT. Los resultados mostrados en la Tabla II indican que, frente a las 25 bacterias Gram-negativas BZN es dos veces más activo que la DMT. Los resultados obtenidos para la bacteria Gram-positiva mostraron un aumento en la actividad del BZN de hasta 8.04 veces mayor que la DMT. Los resultados obtenidos para el hongo *C. albicans* son muy representativos ya que este microorganismo se encuentra presente en la cavidad periodontal y puede ser responsable de una gran cantidad de infecciones traumáticas 30 postoperativas. Una vez más, la actividad de BZN fue 8.04 veces superior que la DMT.

MICROORGANISMO	DMSO	DMT	BZN	DMT/BZN
Escherichia coli	0,704	0,185	0,0926	2,00
Pseudomonas aeruginosa	0,704	0,185	0,185	1,00
Staphylococcus aureus	0,704	0,185	0,023	8,04
Candida albicans	1,408	0,185	0,023	8,04

Tabla II: Valores de la concentración mínima inhibidora (CMI) de los compuestos definida como la dilución que provoca una reducción del 80% de la densidad óptica del control.

5 EJEMPLO 4

Formulación de cementos óseos utilizando 4,4'-bis-dimetilamino benzidrol (BZN) como activador.

- Se formularon composiciones precursoras de cemento óseo utilizando como activador el compuesto 4,4'-bis-dimetilamino benzidrol (BZN) y como fase sólida partículas de poli(metacrilato de metilo) (Perlas QL) cuyas características morfológicas vienen dadas en la tabla de la Tabla III. Las perlas QL son perlas comerciales y fueron suministradas por Industrias Quirúrgicas de Levante.

Diámetro medio, D	33,1 μm .
Intervalo de D	10-60 μm .
Peso molecular promedio en número, M_n	97×10^3
Temperatura de transición vítrea, T_g	103°C.

15 Tabla III: Características morfológicas de las perlas QL.

Así mismo, se ensayó una composición precursora de cemento óseo comercial (CMW 3) como ejemplo comparativo. Las composiciones del cemento comercial y del experimental se recogen en la tabla IV donde se utilizan las siguientes abreviaturas:

PMMA = poli(metacrilato de metilo)

5 BPO = Peróxido de benzoilo

MMA = metacrilato de metilo

DMT = N,N-dimetil-4-toluidina

BZN = 4,4'-bis-dimetilamino benzidrol

Ejemplo	Composición de la fase sólida (%-peso)		Composición de la fase líquida (%-peso)	
Ejemplo Comparativo I	PMMA	88,00	MMA	96,54
	BaSO ₄	10,00	DMT	2,487
	BPO	2,00	Etanol	0,44
			Ácido ascórbico	0,022
			Hidroquinona	0,002
Ejemplo I	PMMA (Perlas QL)	88,50	MMA	99,00
	ZrO ₂	10,00	BZN	1,00
	BPO	1,50		

10 Tabla IV: Composición del cemento óseo comercial tomada como ejemplo comparativo junto con la composición precursora de cemento óseo formulada con el compuesto BZN.

Para cada ejemplo se utilizó un total de 40 g de fase sólida y 20 ml de la fase líquida. Estas composiciones precursoras de cemento óseo se mezclaron para formar la pasta de cemento
15 que en unos minutos fragua para dar lugar al cemento curado.

La temperatura pico (T_{pico}) se define como la temperatura máxima alcanzada durante la reacción de polimerización y se registra de acuerdo con la norma ASTM (F451). Los dos componentes de la composición precursora de cemento óseo se mezclan y la pasta
20 resultante se introduce en un molde de teflón. Se coloca un termopar en el centro del molde a una altura de 3 mm en la cavidad interna. Se toma el tiempo desde el comienzo de la

mezcla de los dos componentes y se registra la temperatura. Se realizó un promedio de dos medidas para cada formulación. Las exotermas se registraron a una temperatura de 25°C.

El tiempo del estado pastoso (t_{pastoso}) representa el tiempo en el que la masa de cemento no se adhiere al guante quirúrgico. En este momento el cemento es implantado en el organismo por ejemplo, en la cavidad femoral.

El tiempo de curado (t_{curado}) se determinó de acuerdo con la norma ASTM (F451) como el tiempo en el que la temperatura de la masa de cemento es la media aritmética de la suma $T_{\text{max}} + T_{\text{amb}}$, donde T_{max} es la temperatura máxima en °C y T_{amb} es la temperatura ambiente, 23°C.

El contenido en monómero residual se determinó por espectroscopia de $^1\text{H-NMR}$. Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente en aire durante siete días antes de ser analizadas. Tres muestras de cada composición se disolvieron en cloroformo deuterado y los espectros se registraron en un espectrofotómetro Varian 300MHz.

Los ensayos de tensión y compresión se realizaron en una Máquina de Ensayos Universal Instron. Se utilizó una velocidad de desplazamiento del cabezal de 20 mm/min para el ensayo de compresión según indica la norma ASTM citada anteriormente, mientras que para el ensayo de tracción se utilizó una velocidad de 1 mm/min de acuerdo con las especificaciones de la norma ISO (527-1). Las probetas se prepararon introduciendo la masa de cemento en su estado pastoso en moldes de teflón y ejerciendo una presión de 1.4 MPa durante aproximadamente 30 min. Las probetas se ensayaron después de haber sido almacenadas a temperatura ambiente en aire durante siete días. Se ensayaron un mínimo de siete probetas para cada composición.

Los valores de los parámetros de curado, el contenido de monómero residual y las propiedades mecánicas de las composiciones de cemento recogidas en la Tabla IV se muestran en la Tabla V.

	DMT	BZN
T _{pico} (°C) [S.D.]	83 [1,5]	74,7 [0,56]
t _{curado} (min) [S.D.]	10,2 [0,10]	10,5 [0,14]
Monómero Residual (%) [S.D.]	1,9 [0,25]	2,5 [0,46]
Resistencia a Compresión (MPa) [S.D.]	87*	79,6 [2,5]
Módulo Elástico en Compresión (MPa) [S.D.]	1950*	1205 [41,6]
Resistencia a la Tensión (MPa) [S.D.]	43*	52,6 [1,9]
Elongación a Rotura (%) [S.D.]	2,2*	2,5 [0,08]

*G. Lewis, Properties of acrylic bone cement: state of the art review, J. Biomed. Mater. Res., 38, 155-182, 1997.

5 Tabla V: Valores de los parámetros de curado, monómero residual y propiedades mecánicas de los cementos curados a partir de las composiciones precursoras que se muestran en la Tabla IV.

10 Las temperaturas pico de las composiciones precursoras que contienen BZN fueron aproximadamente 10°C inferiores a las obtenidas con las formulaciones comerciales lo que representa un beneficio importante y significativo desde un punto de vista biológico. Los valores de monómero residual de ambas formulaciones fueron del mismo orden indicando que la conversión de la reacción de polimerización activada con el compuesto BZN es comparable a la que se alcanza en las formulaciones comerciales.

15 Las propiedades mecánicas obtenidas en los ensayos de tracción y compresión de los cementos formulados con BZN fueron comparables a las obtenidas en las formulaciones comerciales, presentando valores un 20% más elevados de la resistencia a tensión y una elongación a rotura un 15% superior al control.

20 EJEMPLO 5

Implantación intramuscular de varillas de cementos curados a partir de composiciones precursoras formuladas con el activador 4,4'-bis-dimetilamino benzidrol (BZN).

Se implantaron varillas de cements curados a partir de las composiciones precursoras que se muestran en la Tabla IV. Las varillas del cemento comercial se implantaron como control.

5

Las varillas de cemento (3 mm diámetro x 15 mm longitud) se introdujeron mediante una cánula en el músculo dorsal de ratas hembra Wistar de peso medio 300 ± 10 g. La herida se suturó con un punto de seda 3/0 y se aplicó Betadine®. Se hicieron dos grupos correspondientes a 2 y 3 animales respectivamente, que se sacrificaron a las 4 y 8 semanas de la operación.

10

Las muestras se fijaron en una disolución tamponada de formol al 10% (tampón fosfato, pH=7,6) y se embebieron en parafina. Se prepararon secciones histológicas que fueron teñidas según la técnica de hematoxilina-eosina. Las muestras se examinaron en un microscopio óptico Nikon Microphot-FXA. Así mismo, la superficie de las varillas explantadas se analizó por microscopia óptica utilizando un microscopio Nikon Eclipse E400 con iluminación estereoscópica utilizando fibra óptica y un filtro de luz.

15

Las FIG.3-A y FIG.3-B muestran, respectivamente, la imagen histológica de la respuesta del músculo al cemento control (FIG.3-A) y al cemento curado a partir de composiciones precursoras que contienen BZN (FIG.3-B), después de 4 semanas de la implantación. En ambos casos las secciones transversales de tejido circundante mostraron la formación de una membrana fibrosa junto con la presencia de leucocitos polimorfonucleares, macrófagos y eosinófilos. Sin embargo, no se detectaron signos de necrosis como era de esperar debido a la implantación de un cemento curado "in vitro".

20

Las FIG.3-C y FIG.3-D reflejan la respuesta tisular después de 8 semanas de la implantación. La FIG.3-C muestra la respuesta al cemento comercial CMW 3 y la FIG.3-D la obtenida después de la implantación del cemento que contiene BZN. A este periodo de tiempo se observa que la membrana fibrosa ha crecido convirtiéndose en una cápsula

25

30

fibrosa rica en fibras de colágeno orientadas. La reacción inflamatoria que se observa en periodos cortos de tiempo ha ido decreciendo considerablemente aunque todavía se detectó la presencia de algunos macrófagos y eosinófilos. En general, puede decirse que la respuesta de los tejidos a la implantación del cemento preparado con BZN no difiere de la obtenida con la implantación de cementos comerciales y puede ser considerada como normal en la implantación de este tipo de materiales.

La serie de fotografías que se presentan en la FIG.4 muestran las superficies de las varillas antes de la implantación y después de 4 semanas de estar implantadas, para el cemento comercial formulado con DMT (FIG.4-A y FIG.4-B) y para el cemento experimental formulado con BZN (FIG.4-C y FIG.4-D). En ambos casos, la superficie antes de la implantación (FIG.4-A y FIG.4-C) presenta algunas irregularidades originadas en el proceso de curado como son la formación de burbujas durante la manipulación de la masa y su introducción en el molde. Las superficies de las varillas explantadas a las 4 semanas fueron lisas, presentando un aspecto como si hubiesen sufrido un proceso de erosión y las irregularidades han desaparecido. Esta erosión puede estar relacionada con la respuesta inflamatoria que tiene lugar en los primeros días después de la implantación. Durante este periodo de tiempo, la presencia de macrófagos e hidroperóxidos junto con las condiciones de pH pueden ser responsables del fenómeno erosivo. Sin embargo, en este caso la superficie de la varilla que contiene BZN (FIG.4-D), además de lo descrito anteriormente, presentó restos de tejido conectivo adheridos al material. Este comportamiento puede ser atribuido a un efecto estimulante del crecimiento tisular que podría estar relacionado con el posible efecto antiséptico intrínseco que parece tener el BZN.

25 EJEMPLO 6

Implantación intraósea de composiciones precursoras de cemento formuladas con el activador 4,4'-bis-dimetilamino benzidrol (BZN).

Composiciones precursoras comerciales de cemento óseo (CMW 3) utilizadas como control y composiciones precursoras que comprenden el compuesto BZN (Tabla IV) se implantaron en la cavidad femoral de conejos de la variedad Nueva Zelanda.

- 5 Se operaron 20 conejos adultos hembra de la variedad Nueva Zelanda de peso medio 3.820 Kg (3.450-4.260 Kg) en condiciones asépticas. Los animales se distribuyeron en dos grupos. Diez animales constituyeron el grupo control en el cual se implantaron las composiciones del cemento comercial CMW 3 y otros diez animales constituyeron el grupo experimental en el cual se implantaron las composiciones que contienen BZN. En la Tabla
- 10 VI se muestra el diseño experimental y el número de animales implantados en los experimentos.

GRUPO	N	Tiempo del Sacrificio				
		2 días	2 semanas	4 semanas	12 semanas	24 semanas
CONTROL (CMW 3)	10	1	1	2	3	3
EXPERIMENTAL (BZN)	10	1	1	2	3	3

15 Tabla VI: Diseño experimental y número (N) de animales implantados en los experimentos de implantación en el fémur de conejo de las composiciones precursoras de cemento óseo mostradas en la Tabla IV.

Los grupos control y experimental se operaron en actos quirúrgicos diferentes y, en ambos casos, la implantación se realizó en el fémur izquierdo del conejo.

- 20 Los conejos fueron premedicados con sulfato de atropina (0.3 mg/Kg, IM) y clorpromacina (10 mg/Kg, IM). Se administró anestesia general por vía intramuscular, clorhidrato de ketamine (50mg/Kg, IM) y fentanilo (0.17 mg/Kg, IM). Después de afeitar el muslo, la zona quirúrgica se desinfectó con yodo y se hizo una incisión longitudinal. Se crearon dos defectos óseos en las extremidades femorales utilizando un taladro de baja velocidad. El

cemento en su estado pastoso se inyectó con una jeringa y se dejó curar en el interior durante unos minutos, de manera que la reacción exotérmica tuvo lugar "in situ" después de la implantación. El músculo se suturó con un hilo de vicril y la piel con puntos discontinuos de seda. Después de la cirugía, se permitió a los animales libre actividad en sus jaulas y
5 fueron sacrificados a diferentes tiempos por inyección intravenosa de pentotal®. Los implantes se extrajeron con el tejido adyacente y se fijaron en solución tamponada de formol al 10% (pH=7.4).

Para el análisis histológico las muestras se descalcificaron mediante la técnica de formol
10 nítrico (950 ml de formol al 10% y 50 ml de ácido nítrico) previo a la inclusión en parafina durante 24 h. Posteriormente se realizaron cortes transversales (6µm de espesor) con un microtomo manual (Minot-Leniz) y las muestras se tiñeron mediante la técnica de hematoxilina-eosina para el examen histológico.

15 La respuesta del tejido óseo a la presencia de cemento se estudió durante el periodo comprendido entre 2 días y 24 semanas. Durante este tiempo ninguno de los animales mostró signos clínicos de alteración en el área del fémur así como tumores en ningún otro sitio.

20 La evaluación microscópica del material explantado mostró que todas las muestras fueron toleradas bien por el tejido óseo.

Dos días después de la inyección del cemento la evaluación histológica del tejido adyacente en el lugar de la inyección mostró la presencia de algunas áreas de necrosis para cualquier
25 composición. La causa de esta necrosis no puede ser claramente elucidada. La necrosis puede ser producida por causas térmicas, químicas así como por el propio procedimiento quirúrgico. El daño de algunas zonas locales del hueso es inevitable en cualquier procedimiento de implantación que conlleve el taladro del hueso, aunque se haga a baja velocidad, y también la inyección de un material que cura "in situ"(P.A. Revell, M.
30 Braden, M.A.R. Freeman, Review of the biological response to a novel bone cement

containing poly(ethyl methacrylate) and n-butyl methacrylate, Biomaterials, 19, 1579-1586 (1998)). Así mismo, se observaron leucocitos polimorfonucleares alrededor de los restos del material, y en otras áreas más alejadas del material se detectaron células mononucleares, principalmente eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas y macrófagos, claros indicadores de la reacción de inflamación.

Las FIG.5-A y FIG.5-B muestran microfotografías representativas de las secciones histológicas de la interfaz entre el cemento CMW 3 o el cemento experimental respectivamente, y el tejido adyacente a los 2 días de la implantación.

La principal diferencia entre la formulación experimental y la control se encuentra en el proceso de oseoformación que se manifiesta por la presencia de una matriz ósea no mineralizada (osteóide). Este proceso fue mucho más acusado para la implantación del cemento experimental, como se refleja en la FIG.5-C.

El análisis histológico del tejido adyacente al cemento óseo a las 2 semanas reveló características similares para ambos tipos de cemento en lo que respecta a la necrosis y a la respuesta inflamatoria como se describe arriba. Sin embargo, con relación a la osteogénesis la formulación experimental presentó la mejor respuesta manifiesta en una mayor neoformación de trabécula ósea.

El análisis histológico a las 4 semanas de la implantación mostró la existencia de menos áreas necróticas que en los periodos anteriores como consecuencia del proceso de reabsorción llevado a cabo por los macrófagos. La respuesta inflamatoria continua su proceso reparativo observándose una mayor cantidad de macrófagos y células gigantes multinucleadas rodeando los restos de los dos tipos de cemento.

Sin embargo, como en periodos anteriores de tiempo, el proceso de neoformación ósea difiere en la respuesta a un cemento u otro. El cemento que contiene BZN dio lugar a una mayor y más rápida neoformación caracterizada por la presencia de un ribete eosinófilo

más abundante que traduce el depósito osteoide. Esta neoformación ósea adquiere la característica morfológica de englobar los restos del material. Las FIG.6-A y FIG.6-B ilustran estas diferencias en cuanto a la neoformación ósea se refiere que acompañan a la implantación de un cemento comercial (CMW 3) y al cemento experimental que contiene
5 BZN, respectivamente.

La FIG.7 muestra la zona de epífisis femoral después de 12 semanas de la implantación del cemento experimental donde se puede observar una intensa proliferación ósea, con trabéculas finas, separadas por un laberinto de espacios interconexionados que contienen
10 médula ósea.

La respuesta histológica a largos periodos de tiempo, 24 semanas, cuando se puede considerar que se ha alcanzado el estado estacionario, presentaba la misma tendencia observada en los periodos anteriores. Lo más relevante en este periodo es la formación
15 ósea que se aprecia en la respuesta al cemento experimental, que demuestra la confluencia de trabéculas óseas, sobre todo en la diáfisis, de tal forma que el espesor del hueso neoformado es más notable que el obtenido con la formulación control de CMW 3.

Las FIG.8-A y FIG.8-B, correspondientes a la respuesta histológica para este periodo de
20 tiempo (24 semanas) a los cementos control y experimental respectivamente, ilustran este comportamiento. Particularmente, la FIG.8-B corresponde a la diáfisis femoral tratada con el cemento experimental y muestra la disposición laminar que adquiere la formación ósea, con lagunas conteniendo osteocitos.

Breve descripción de las figuras

FIG.1 es una gráfica que muestra la relación entre la dosis de BZN o DMT, y el porcentaje de mortalidad determinada por inyección intravenosa en ratones de una solución salina al 5% del correspondiente clorhidrato.

- 5 **FIG.2** es una gráfica que muestra los efectos de los compuestos DMT y BZN sobre la integridad de leucocitos polimorfonucleares de rata medidos en términos de liberación de LDH.

- FIG.3** es una serie de fotografías que muestran la respuesta histológica a la implantación intramuscular en ratas de varillas de cemento comercial CMW 3 y de cemento experimental
10 formulado con el compuesto BZN.

FIG.4 es una serie de fotografías que muestran las superficies de las varillas antes y después de 4 semanas de implantación, de cemento comercial CMW 3 y de cemento experimental formulado con el compuesto BZN.

- FIG.5** es una serie de fotografías que muestran la respuesta histológica a los dos días de la
15 implantación intraósea de las composiciones precursoras de cemento óseo mostradas en la FIG.6, curadas "in situ".

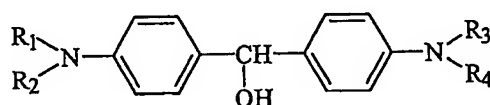
FIG.6 es una serie de fotografías que muestran la respuesta histológica a las 4 semanas de la implantación intraósea, de las composiciones precursoras de cemento óseo mostradas en la FIG.6, curadas "in situ".

- 20 **FIG.7** es una fotografía que muestra el análisis histológico del tejido óseo adyacente a un cemento formulado con el activador BZN después de 12 semanas de la implantación.

FIG.8 es una serie de fotografías que muestran la reacción histológica a la implantación intraósea de un cemento comercial y de un cemento experimental formulado con BZN después de 24 semanas de la implantación.

Reivindicaciones

1. Una composición para su uso como composición precursora de cemento óseo caracterizada porque comprende una o más aminas terciarias como activadores en una cantidad de hasta un 3%-p con respecto al peso total de la fase líquida y porque el activador
5 es un compuesto cuya estructura química general es:



Fórmula (I)

10

donde:

- R₁ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.
R₂ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.
R₃ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.
15 R₄ es un radical metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o tert-butilo.
2. Una composición según la reivindicación 1 porque también incluye metacrilato de metilo, MMA, en una cantidad de 95-98 %-p con respecto al peso total de la fase líquida.
- 20 3. Una composición según la reivindicación 1 caracterizado porque también incluye uno o más inhibidores en una cantidad de hasta un 0.01 %-p y/o uno o más estabilizadores en una cantidad de hasta un 0.01 %-p.
4. Una composición según la reivindicación 3 caracterizada porque el inhibidor y/o el
25 estabilizador es un compuesto de la familia de las quinonas.

5. Una composición para su uso como composición precursora de cemento óseo caracterizada porque contiene una fase sólida y una fase líquida, donde la fase líquida comprende una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 5 6. Una composición según las reivindicaciones 1 ó 5, caracterizada porque la fase sólida comprende partículas de poli(metacrilato de metilo) prepolimerizado, PMMA, o copolímeros de MMA con otros monómeros, y porque las partículas están presentes en una cantidad comprendida entre el 70 y 95 %-p, preferiblemente entre el 80 y 95 %-p con respecto al peso total de la fase sólida.
- 10 7. Una composición precursora de cemento óseo según las reivindicaciones 1, 4 o 6, caracterizada porque la fase sólida comprende uno o más iniciadores en una cantidad de hasta un 3 %-p y/o uno o más agentes radiopacos en una cantidad de hasta un 20 %-p con respecto al peso total de la fase sólida.
- 15 8. Una composición precursora de cemento óseo según la reivindicación 7 caracterizada porque el iniciador es peróxido de benzoilo y/o el/los agentes radiopacos es/son seleccionados entre sulfato de bario, dióxido de zirconio u óxido de tántalo.
- 20 9. Un cemento caracterizado porque se obtiene por curado de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y a las que se les adiciona cualquier tipo de sales de calcio y muy especialmente fosfatos de calcio.
- 25 10. Un proceso de obtención de un cemento que comprende una fase sólida y una fase líquida, el mezclado de ambas fases y la consiguiente polimerización de la fase líquida para dar lugar al material curado, donde la fase sólida comprende partículas de polímero y uno o más iniciadores de tipo radical como se detalla en cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, y la fase líquida es una composición como se detalla en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

11. Uso del cemento óseo obtenido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, entre otros, para cirugía ortopédica y traumatología para la fijación de prótesis de articulaciones, para relleno de cavidades óseas o dentales y como soporte de cesión controlada de medicamentos y compuestos bioactivos.

1/7

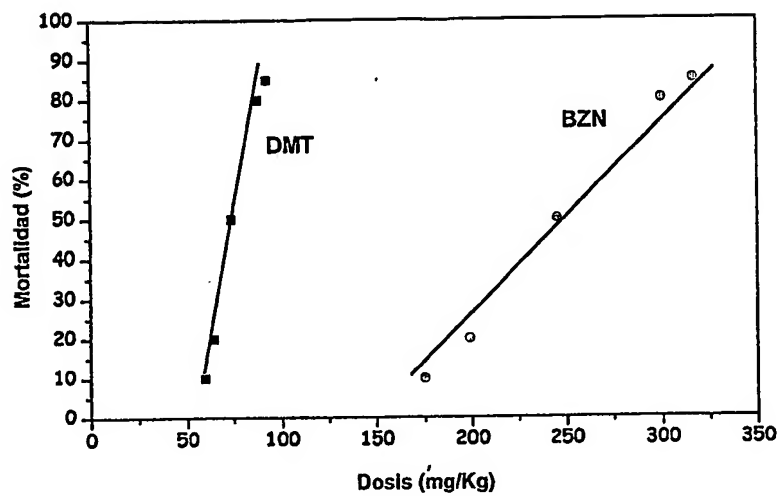


FIGURA 1

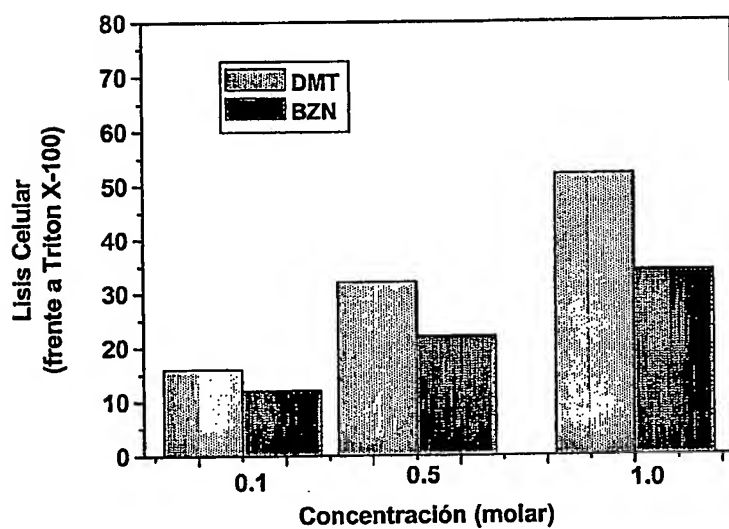


FIGURA 2

2/7

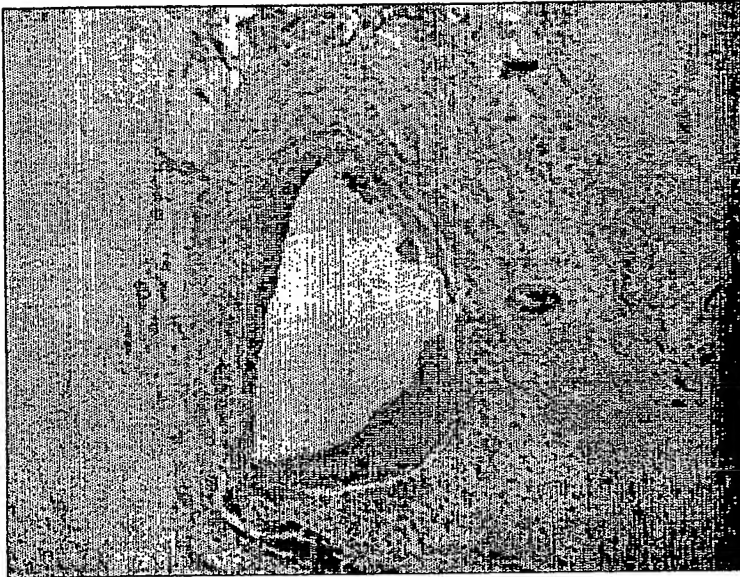


FIGURA 3-A



FIGURA 3-B

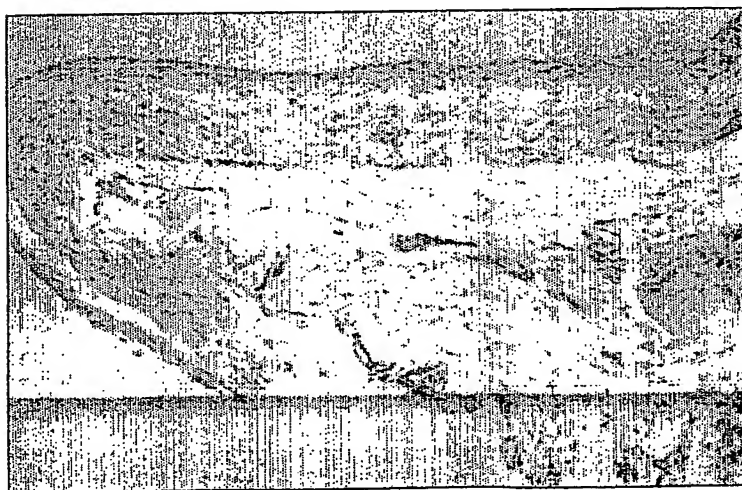


FIGURA 3-C

3/7



FIGURA 3-D

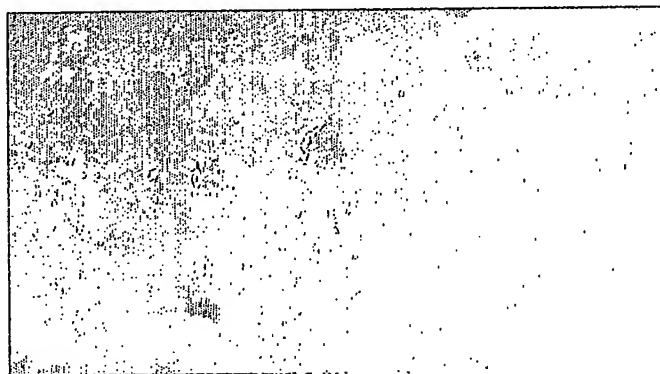


FIGURA 4-A

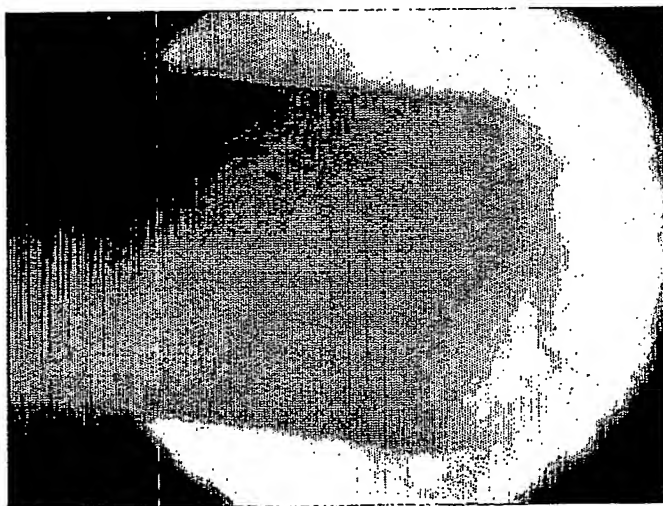


FIGURA 4-B

4/7

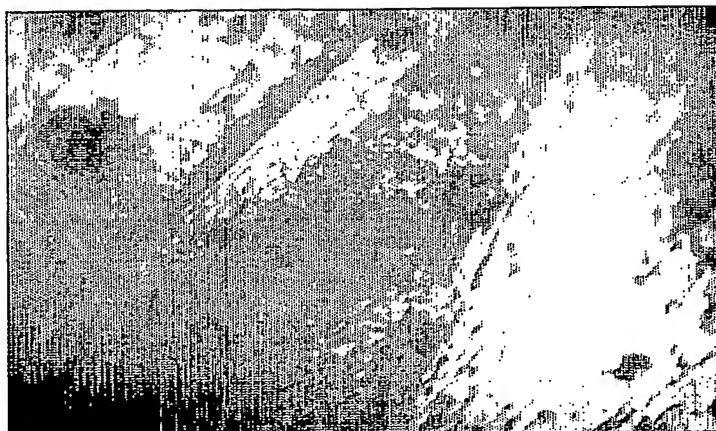


FIGURA 4-C

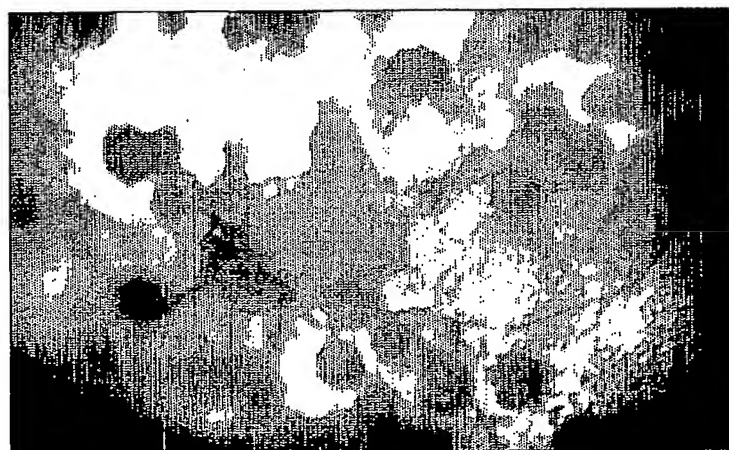


FIGURA 4-D

5/7

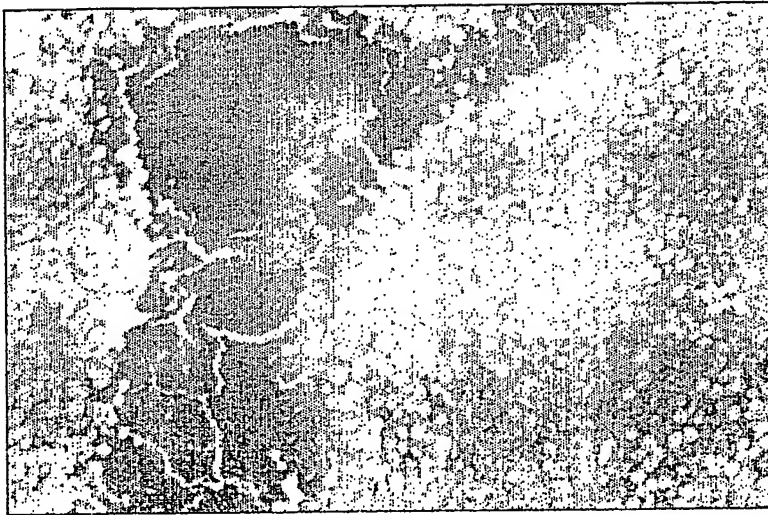


FIGURA 5-A

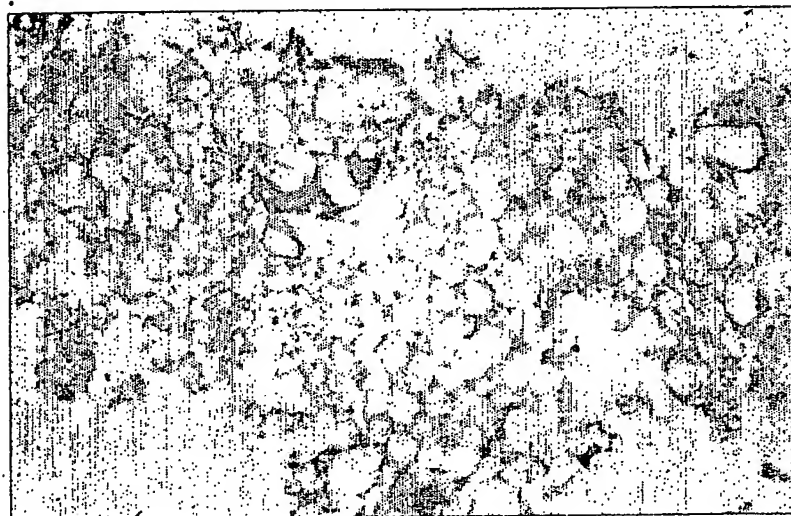


FIGURA 5-B

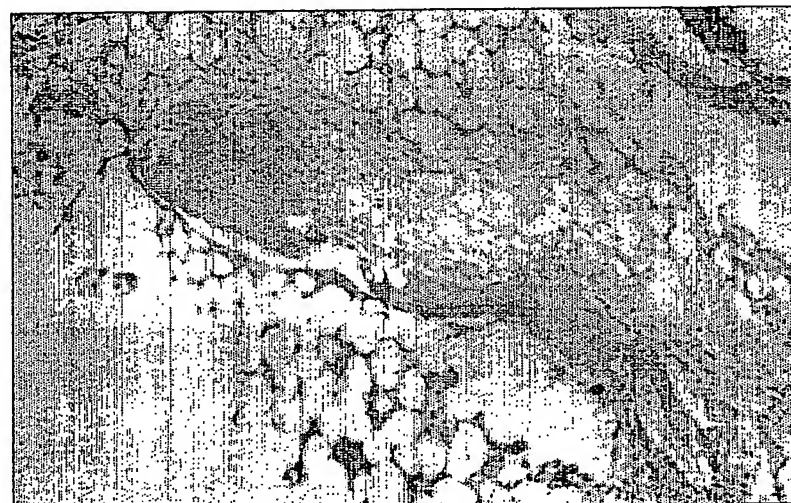


FIGURA 5-C

6/7

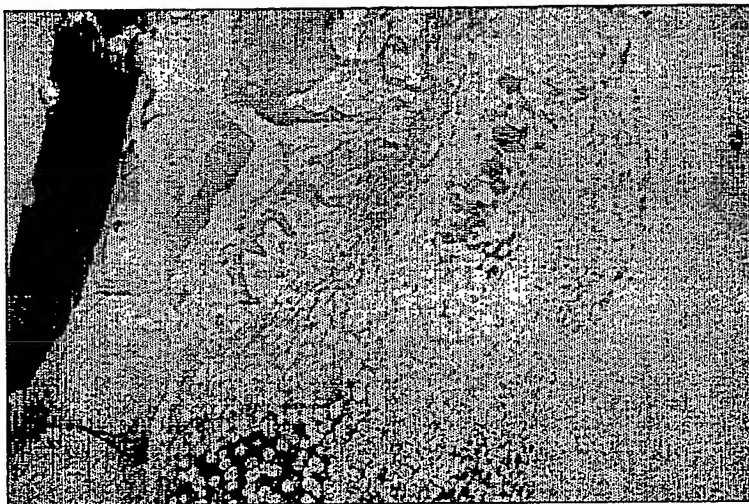


FIGURA 6-A.



FIGURA 6-B

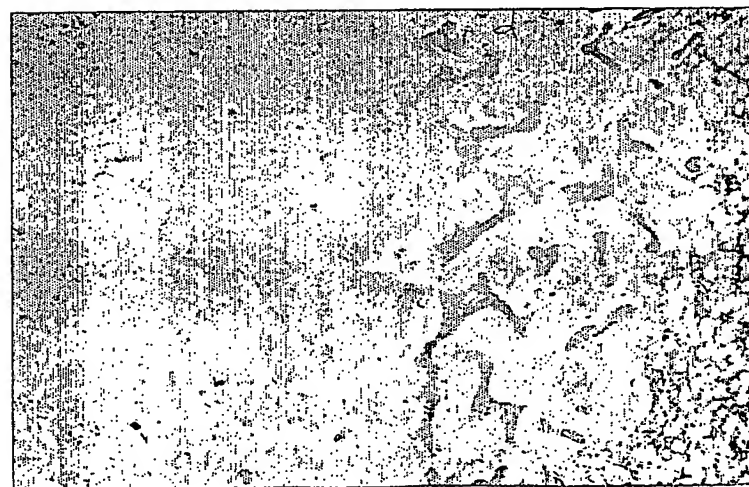


FIGURA 7

7/7



FIGURA 8-A

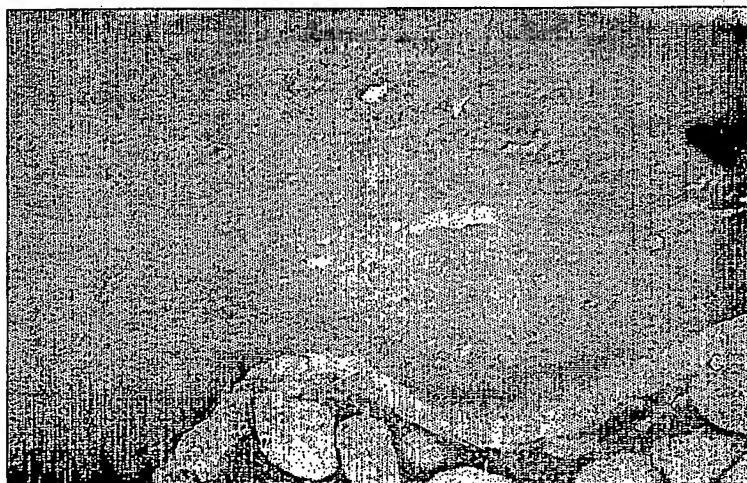


FIGURA 8-B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 03/00055

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC⁷ A61L 24/06, A61K 6/083

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC⁷ A61L, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, REGISTRY, HCAPLUS.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RÉTHY, E. et al: Synthetische lineare polimere V. Die-wirkung der tetra alkyldiamino- diaryl-aktivatoren auf die polymerisation der monomer- polymer-mischungen des methyl methacrylates in anwesenheit von benzoylperoxyd. Macromol. Chem. 1958, Vol. 25, pages 176-185.	1,2,7,8
Y		3, 4-6, 9-11
Y	VÁZQUEZ, B. et al. "Application of long chain amine activator in conventional acrylic bone cement. J.of Biomedical Materials Research. 1998 Vol. 43, n° 2, pages 131-139, the abstract, table I	1-11
A	DEB, S. et al: Water absorption characteristics and cytotoxic and biological evaluation of bone cements formulated with a novel activator. J. of Biomedical Materials Research. 1999, Vol. 48, n° 5, pages 719-725, the abstract, table I	1-11
A	WO 0141713 A (ABONETICS LIM.) 14.06.2001 the whole document	1-11
A	US 5698611 A (OKADA et al.) 16.12.1997, the whole document	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 April 2003 (25.04.03)

Date of mailing of the international search report

13 May 2003 (13.05.03)

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/ES 03/00055

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0141713 A	14.06.2001	NONE	
US 5698611 A	16.12.1997	BE 1012640 DE 19609885 A C JP 8245329 A	06.02.2001 19.09.1996 24.09.1996

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°
PCT/ES 03/00055

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP⁷ A61L 24/06, A61K 6/083

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima consultada (sistema de clasificación, seguido de los símbolos de clasificación)
CIP⁷ A61L, A61K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)
CIBEPAT, REGISTRY, HCAPLUS.

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
X	RÉTHY, E. et al: Synthetische lineare polymere V. Die-wirkung der tetra alkyldiamino- diaryl-aktivatoren auf die polymerisation der monomer- polymer-mischungen des methyl methacrylates in anwesenheit von benzoylperoxyd. Macromol. Chem. 1958, Vol. 25, páginas 176-185.	1,2,7,8
Y		3, 4-6, 9-11
Y	VÁZQUEZ, B. et al. "Application of long chain amine activator in conventional acrylic bone cement. J.of Biomedical Materials Research. 1998 Vol. 43, n° 2, páginas 131-139, resumen, tabla I.	1-11
A	DEB, S. et al: Water absorption characteristics and cytotoxic and biological evaluation of bone cements formulated with a novel activator. J. of Biomedical Materials Research. 1999, Vol. 48, n° 5, páginas 719-725, resumen, tabla I.	1-11
A	WO 0141713 A (ABONETICS LIM.) 14.06.2001, todo el documento.	1-11
A	US 5698611 A (OKADA et al.) 16.12.1997, todo el documento.	1-11

☐ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familia de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 25 abril 2003 (25.04.2003)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

13 MAY 2003 13.05.03

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M

c/ Panamá 1, 28071 Madrid, España
n° de fax +34 91 3495304

Funcionario autorizado

Hortensia AYLAGAS

n° de teléfono +34913495475

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional n°

PCT/ES 03/00055

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 0141713 A	14.06.2001	NINGUNO	
US 5698611 A	16.12.1997	BE 1012640	06.02.2001
		DE 19609885 A C	19.09.1996
		JP 8245329 A	24.09.1996